

## 5. 細菌第二部

部長 柴山 恵吾

### 概要

細菌第二部は、ジフテリア、百日咳、結核、インフルエンザ菌感染症、マイコプラズマ感染症などの細菌性呼吸器感染症、破傷風、ボツリヌス症、クロストリディオイデス・ディフィシル感染症などの偏性嫌気性細菌感染症、ヘリコバクター属菌等による日和見感染症や慢性感染症、鼻疽、類鼻疽などの希少感染症、猫ひっかき病など一部の人獣共通感染症について予防・診断・治療およびそれらに関するレファレンス業務にかかわることを所管する。これらの感染症の原因となる細菌について病原性、薬剤耐性の分子機構の解明や分子疫学解析、新規の薬剤やワクチン、診断法開発を行う。また、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、百日せきワクチン、BCG ワクチン、Hib ワクチン、精製ツベルクリン、抗毒素などの生物学的製剤の品質管理試験およびそれらの品質管理に必要な標準品に関すること、無菌性保証に関すること、並びにそれらのレファレンス業務を行う。これらの感染症の研究やワクチン等生物学的製剤の品質管理に関して国際協力も行う。

細菌第二部は研究に加えて行政に関する業務や品質管理業務も多く担っているが、平成29年度は通常の定型的な業務の他、感染症法の百日咳の新しい届出基準と届出ガイドラインを作成したり、ワクチンの製造販売業者における様々な課題の解決のため検討会を開催したり収去試験を実施するなど、多くの行政関連の業務があった。さらに、乳児ボツリヌス症例に関連し急増したメディア取材にも対応するなど、研究以外の多様な業務に対応した。

平成29年4月に薬剤耐性研究センターが新設されたこととともない、それまで細菌第二部において薬剤耐性研究を担っていた第1室、第6室が薬剤耐性研究センターに移設され、これらの室の業務も全て移管された。同時に、それまでの細菌第二部第5室は第1室に室名が変更され、細菌第二部は4室体制となり、上記の業務を引き続き所掌することとなった。4月から12月までは柴山は薬剤耐性研究センター長を併任し、厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)の運営や薬剤耐性研究にも携わった。人事では、8月10日に第1室(旧第5室)の福田靖主任研究官が退職した。

### 業績

#### 調査・研究

### I. 鼻疽菌・類鼻疽菌に関する研究

#### 1. *Burkholderia pseudomallei* の薬剤感受性の検討

新たに同定された *B. pseudomallei* の薬剤感受性をこれまでに保有している株と比較したところ、*B. pseudomallei* の治療でよく使用される ST 合剤に対し保有株はいずれも感性を示していたが、今回の株は耐性であった。ST 合剤に対する耐性率は上がっているという報告があり、今回の結果はその傾向を示していると考えられる。[堀野敦子]

### II. インフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*)ならびに細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

#### 1. 成人由来侵襲性インフルエンザ菌の解析

侵襲性インフルエンザ菌感染症の報告が義務化された2013年4月以降に分離された成人由来のインフルエンザ菌について、解析を行った。殆どの分離株が NTHi (95%)で、その他血清型 b、e、f が数株存在していた。157株の MLST 解析では、79種類の ST に分類され、そのうち2株は新しい ST であり、特定の ST による発症の偏りは認められなかった。アンピシリン耐性が増加傾向を示し、PBP3 の変異の増加とともに1株中の変異箇所数の増加が認められた。[久保田眞由美、見理剛、柴山恵吾、村上光一、大石和徳]

#### 2. 小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株の解析

1道9県の15歳未満の小児を対象に、侵襲性インフルエンザ菌感染症患者の髄液あるいは血液から分離された菌株の莢膜型別と主要抗菌薬に対する感受性試験を2007年以降実施している。2017年入院患者からは莢膜型 f 株 (*Haemophilus influenzae* type f: Hif) 1株ならびに Non-typable *H. influenzae* (NTHi) 11株が分離された。Hib ワクチン定期接種導入後の時期においてアンピシリン感受性株の割合がやや減少している傾向が見られた。

[佐々木裕子、久保田眞由美、見理 剛、柴山恵吾]

### III. *Clostridium difficile* 感染症に関する研究

#### 1. 日本の *Clostridioides difficile* 感染症(CDI)疫学研究

データのとりまとめをおこない、学会発表を行った。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる]

#### 2. *Clostridioides difficile* 遺伝子検出試薬開発に関する研究

必要な追加実験を行い、論文作成の準備を行った。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる]

### 3. アジアの医療機関における *Clostridioides difficile* 感染症に関する教育啓蒙ツールの開発

日本国内医療機関モデルケースにおける *Clostridioides difficile* 感染症(CDI)の検査診断・感染予防に関する実態調査を行い、個々の医療機関で、どのような情報提供が有用か、データ集積を開始した。ベトナム(National Institute of Hygiene and Epidemiology, NIHE)での実験環境整備に関し支援した[妹尾充敏、福田靖、加藤はる、柴山恵吾、Vu Thi Thu Huong (NIHE, Vietnam)]

### 4. *Clostridium difficile* 感染症(CDI)に対する DNA ワクチンの開発

Toxin B に対する DNA ワクチンをマウスに接種したところ、Toxin B に対する抗体が産生されており、この抗体が Toxin B の細胞障害活性の中和能を有することを確認した。[妹尾充敏、加藤はる、岩城正昭、福田靖]

## IV. マイコプラズマに関する研究

### 1. Nanopore シークエンサー技術を用いた *Mycoplasma amphoriforme* ゲノム解析法の検討

慢性呼吸器感染症の病態理解を目的に *Mycoplasma amphoriforme* ゲノム配列解析を継続している。解析手法として Nanopore sequencer MinION MkIB (Oxford Nanopore Technologies 社)による long read 配列と MiniSeq (Illumina 社)による short read 配列を用いて assemble を行い得られた contig 中の CDS について機能予測を行った。近縁種の *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *M. gallisepticum*, *M. penetrans* との Ortholog はいずれも 400 CDS 程度であり、一方、*M. amphoriforme* 固有 CDS は 250 個程度、*M. pneumoniae* 固有 CDS は 300 個程度、ゲノムサイズが 1.3M と大きい *M. penetrans* 固有 CDS は 600 個程度であった。*M. pneumoniae* 主要付着タンパク質 P1 の ortholog は *M. amphoriforme* には存在せず独自の接着機構の存在が示唆された。[佐々木裕子、鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、見理 剛、柴山恵吾、勝川千尋、水谷香代子(大阪健康安全基盤研究所)、高橋和郎(国際医療福祉大学病院)]

### 2. 肺炎マイコプラズマ株の収集と遺伝子解析

2017 年はマイコプラズマ肺炎の大きな流行は見られなかったため、*M. pneumoniae* の分離菌の収集数も少なかったが、岡山県と埼玉県で収集された 33 株について、*p1* 遺伝子型別とマクロライド耐性の分析を行った。その結果、*p1* 遺伝子型が 1 型のものが 13 株、2 型が 3 株、2c 型が 17 株だっ

た。このうち 23S rRNA 遺伝子にマクロライド耐性変異を有していたのは *p1* 遺伝子 1 型の 13 株で、2 型および 2c 型の菌は、マクロライド耐性変異を有していなかった。

[藤井寛之、橋本 徹(倉敷中央病院)、山崎 勉(若葉子どもクリニック)、勝川千尋(大阪健康安全基盤研究所)、見理 剛、柴山恵吾]

### 3. *Mycoplasma pneumoniae* の MLST 解析

これまでに北海道大学と共同研究で解析を行ってきた *M. pneumoniae* の保存菌株を用いた MLST 解析を継続して行なった。[堀野敦子、石黒信久(北海道大学)]

## V. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

### 1. *Corynebacterium ulcerans* 臨床分離株のタイピング

*C. ulcerans* のタイピングには、ゲノム DNA を制限酵素で切断し、リボソーム RNA 遺伝子領域に相同なプローブを用いたサザンブロットングを行って得られるパターンを比較するリボタイプ法が用いられる。今回我々は、特定の菌のパターンが、ゲノム配列から予想されるものと異なることを見出し、そのメカニズムについて解析を行っている。[岩城正昭、山本明彦(バイオセーフティ管理室)、関塚剛、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)]

## VI. 結核等抗酸菌に関する研究

### 1. イソニアジド耐性機構の解析及び結晶化

平成 28 年度の成果より、今年度は同定した新規アミノ酸とイソニアジドの結合様式を明らかにするため、野性型及び変異型 KatG (A479E, R463L+A479E 変異)とイソニアジドとの共結晶化を試みたところ、X 線測定が可能な結晶が得られなかった。今後も引き続き結晶化条件の検討を行う予定である。[金玄、森茂太郎]

### 2. 北京型結核菌由来 DNA ジャイレース(GyrA)の結晶化

キノロン耐性北京型結核菌株において、*gyrA* 遺伝子上のキノロン耐性決定領域外に新たな変異 (A74S) が見出されている。さらに、この変異を持つ株は D94G の変異も併せ持つことが示されている。これらの変異とキノロン耐性との関連を明らかにするため、変異型 DNA GyrA の結晶化を試みた。その結果、X 線測定が可能な結晶が得られた。[金玄、森茂太郎]

### 3. *Mycobacterium avium* 由来新規スクレオチド加リン酸分解酵素の結晶化

前年度に得られた *M. avium* 由来新規スクレオチド(N 末部位削除)の結晶を用いて X 線結晶構造解析を行い、本酵素

の立体構造を決定した。[本田尚子(品質保証・管理部)、森茂太郎]

#### 4. 結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素を標的とした新規抗結核薬の開発

FDA 承認薬ライブラリーを用いたスクリーニングを行い、結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の活性を阻害するとともに、結核菌の生育を阻害する化合物を同定した。今後、これらの化合物について薬剤化を進める予定である。[森茂太郎]

### VII. ヘリコバクター属菌に関する研究

#### 1. *Helicobacter cinaedi* の病原性に関する研究

*H. cinaedi* の病原性因子の候補となる遺伝子のノックアウト株を作製し、培養細胞への感染実験により、病原性への寄与を検討した。その結果、既知の病原因子である *cytolethal distending toxin (CDT)* 以外に大腸菌のセリンプロテアーゼである *EspC* 類似のタンパク質のノックアウト株において、細胞障害活性が低下した。現在、本タンパク質がどのように *H. cinaedi* の病原性へ寄与しているかを検討中である。[林原絵美子]

#### 2. *H. cinaedi* の比較ゲノム解析

*H. cinaedi* の日本の臨床分離株について、ドラフトゲノムを解析し、比較ゲノム解析を行った。その結果、院内感染由来クローンに特有の因子を複数見出した。現在、これらの因子のノックアウト株を作製し、RNA-Seq 等の解析によりこれらの因子の役割を解析している。[林原絵美子、鈴木仁人(薬剤耐性研究センター)]

### VIII. 百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

#### 1. 遺伝子組換えによる百日せきワクチン株の改良

平成 28 年度までに、精製百日せきワクチンの改良を目的に線毛 3 を発現する組換えワクチン株(東浜株)を作出した。当該年度は組換え東浜株から線毛 2/3 の精製を行い、マウス鼻腔感染モデルを用いて線毛 2/3 含有 DPT-sIPV ワクチンの有用性を評価した。その結果、線毛 2/3 含有 DPT-sIPV 接種群では感染 1 日後の肺内生菌数がコントロール群(PBS 接種群、DPT-sIPV 接種群)に比較して有意に減少することが判明し、線毛 2/3 抗原の有用性が確認された。[大塚菜緒、蒲地一成]

#### 2. 百日咳菌自己凝集能の解析

百日咳菌は線毛 *Fim3* を高産生すると自己凝集を引き起こす。線毛 *Fim3* の産生量と百日咳菌の病原性の関係をマウス

*in vivo* 接着実験により評価した。本実験ではマウスに百日咳菌を経鼻感染させたのち、肺胞洗浄を行って洗浄液中に回収された菌量および肺組織に残存する菌量を比較解析した。その結果、*Fim3* 高産生株は *Fim3* 低産生株、*Fim3* 非産生株に比べて肺胞洗浄液中に遊離する菌量が有意に少なく、肺組織への接着率が高いことが判明した。以上の結果から、百日咳菌 *Fim3* の高産生が菌体の *in vivo* 肺内接着に有利に働くことが示唆された。[大塚菜緒、文元礼、蒲地一成]

#### 3. 新規血清診断法 Novagnost/IgA, IgM キットの評価

2016 年に百日咳血清診断法として新たに健康保険が適用された百日咳抗体測定キット(ノバグノスト百日咳/IgA, ノバグノスト百日咳/IgM)の性能評価を実施した。遺伝子検査により確定診断された患者血清(n=26)と健康人血清(n=18)を供試し、本測定キットの感度と特異度を検討した。その結果、ノバグノスト IgA キットの感度は 11.5%、特異度は 88.9%、ノバグノスト IgM キットの感度は 7.7%、特異度は 100%と評価され、両測定キットともに低い感度と高い特異度が示された。患者ペア血清を用いた評価から、本測定キットは現行の判定基準では十分な感度を得ることは困難と判断された。[文元礼、大塚菜緒、蒲地一成]

#### 4. パラ百日咳菌の遺伝子型別法の開発

百日咳類縁菌であるパラ百日咳菌について、MLVA 法を用いた遺伝子型別法の開発を行った。パラ百日咳菌のゲノム情報をもとに 17 箇所の VNTR 候補を抽出し、臨床分離株において多様性を示す 4 箇所の VNTR を選択した。安定性試験において、これらの VNTR は培養 10 継代後も繰返し数に変化を認めず、*in vitro* で高い安定性を示した。また、4 箇所の VNTR を用いた MLVA 解析により、臨床分離株 34 株は 18 種類の遺伝子型に分類され、分離年と分離地域において疫学的な関連性を認めた。以上の結果から、本法はパラ百日咳菌の遺伝子型別法として有用と判断された。[蒲地一成、大塚菜緒、文元礼]

### IX. バルトネラ菌に関する研究

#### 1. 路上生活者のバルトネラ菌に関する疫学調査

東京都において救急搬送患者でシラミ保有者からの *Bartonella quintana* に対し、これまでの IgG 抗体価測定に加え、本年は IgM 抗体価を測定し解析を行った。[久保田眞由美、佐々木年則(昆虫医科学部)、山岸拓也(感染症疫学センター)、伊藤航人(済生会中央病院)]

### X. 流行予測事業に関する業務・研究

#### 1. 破傷風流行予測で使用してきた破傷風抗体価測定キット

の製造中止に伴い、その代替品の開発を行った。さらに、平成 30 年度の流行予測事業で、従来品と本試作品の両者を使用するよう調整を行った。[岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる、小澤賢介(デンカ生研)]

## XI. その他薬剤耐性に関する研究

### 1. WHO の薬剤耐性サーベイランス(GLASS)への提出データ集計

WHO が進めているサーベイランス Global Antimicrobial Resistance Surveillance System に提出するデータを厚生労働省院内感染対策サーベイランス JANIS のデータベースから抽出し、集計した。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

### 2. 中国薬剤耐性サーベイランス CARSS との連携体制

CARSS を運営している北京大学臨床薬理研究所を訪問し、JANIS と情報交換を継続することとした。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

### 3. JANIS のアジア展開

モンゴルにおいて JANIS を導入し、データの試験送信を行った。その他ベトナム、ハノイ USCDC、WHO の SEARO 等と協議を進めた。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

### 4. カンボジア、ベトナムで収集したカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の耐性遺伝子のグローバルな動体解明に関する研究を進めた。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

## レファレンス業務

### I. 百日咳関係

#### 1. 百日咳検査キットの供与

百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に、地方衛生研究所 9 施設に 4Plex リアルタイム PCR キット(10キット)を供与した。[蒲地一成、柴田美幸、大塚菜緒]

#### 2. *B. pseudomallei* 検出のための陽性コントロール DNA の提供

地方衛生研究所 1 施設に *B. pseudomallei* 検出 PCR のための陽性コントロール DNA を分与した。[堀野敦子]

## サーベイランス業務

### I. 百日咳関係

1. 地方自治体(保健福祉事務所)からの依頼を受けて、百日咳様患者に対する *Bordetella* 属細菌の病原体検索を 14 件実施した。[蒲地一成、柴田美幸、大塚菜緒]

2. 平成30年1月から百日咳の届出基準が改正され、感染症法における百日咳発生动向調査はこれまでの臨床診断から検査診断に基づく全数報告に変更となった。担当室では届出基準ならびに感染症法に基づく医師届出ガイドラインの策定に携わった。[大塚菜緒、蒲地一成]

## 品質管理に関する業務

### I. 生物学的製剤の品質管理に関する研究

#### 1. 破傷風トキソイドワクチン力価試験の in vitro 化に関する研究

現行の破傷風トキソイドワクチンの力価試験には、マウスに多大な苦痛を強いる lethal challenge 法が用いられており、3Rs の観点から代替法の開発は急務である。これまでに、破傷風毒素の活性を指標とした in vitro 代替法を開発を試みてきたが、優れた方法の開発には至っていない。そこで、代替法に用い得るような毒素活性以外の指標について、情報収集を行ない、開発可能性の検討を開始した。[岩城正昭]

### II. 国家検定、国家検査、収去検査、承認前検査、依頼試験について

細菌第二部では細菌製剤、抗毒素製剤などの非常に多くの製剤について国家検定、検査を担当している。平成29年度は総務部作成の II 国家検定・検査に示されている所掌の試験を実施した。ここでは、II 国家検定・検査に記載されていない承認前検査、標準品の制定、依頼検査や、厚生労働省の依頼により特別に実施した試験などについて記載する。

#### 1. 承認前検査の実績

無菌試験の書類審査(1件)

#### 2. 標準品、参照品の制定

(1) 参照破傷風抗毒素(フロキュラシオン用)の標準化作業を行い、平成 29 年 9 月 7 日の検定協議会で承認され制定された。[岩城正昭、小宮貴子、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代]

(2) 標準 A 型ボツリヌス抗毒素の標準化作業について、製造販売会社との協議を開始し準備を進めた。[岩城正昭、小宮貴子、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代]

#### 3. 依頼検査

(1) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン(皮内用)関連

ア. 22 ロットの書類審査を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎]

## 細菌第二部

イ. 依頼試験として2ロットの力価試験を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎、持田恵子]

### 4. 収去検査

(1) メーカーにおいて発生した問題を受け厚労省の依頼により、沈降精製ジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン 2 検体のジフテリアトキソイド力価試験を行った。[小宮貴子、加藤はる、岩城正昭、妹尾充敏、与那嶺澄代]

(2) メーカーにおいて発生した問題を受け厚労省の依頼により、収去試験として乾燥 BCG ワクチンの力価試験を1ロット行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎、持田恵子]

## III. 品質管理に関わる試験法の検討

1. 複数の製造販売業者において、ジフテリアトキソイド力価試験結果に関して問題が見受けられたため、ジフテリアトキソイドを含む製剤を製造する製造販売業社と国立感染症研究所で、「ジフテリアトキソイド力価試験検討会」をたちあげ、試験法に関する検討を開始した。[小宮貴子、加藤はる、岩城正昭、妹尾充敏]

## 国際協力関係業務

### I. JICA 関係

1. 医療関連感染管理指導者養成研修講義(国立国際医療研究センター、英語、2018年8月24日、11月2日)[柴山恵吾]

2. 重症感染症などのアウトブレイク対応強化のための実地疫学(管理者向け)研修講義(国立国際医療研究センター、英語、2018年9月22日)[柴山恵吾]

3. 「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」において、DPT ワクチンの品質管理に関する講義を行った。(2018年1月)[岩城正昭、大塚菜緒]

4. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」において、BCG ワクチンに関する講義を行った。(2018年1月)[堀野敦子、森茂太郎]

### II. WHO 関係

1. Expert Consultation for Surveillance Standards for Diphtheria (November 2017 Lisbon, Portugal) (WHO EPI, IVB 主催) に招聘され、標記 Standards の最終案策定のための討議を行った。[岩城正昭]

2. Consultation for supporting antimicrobial resistance surveillance in the Southeast Asia Region through electronic data centralization. (WHO SEARO, New Delhi, 20-21st February, 2018)に参加し、途上国における薬剤耐性サーベイランス耐性構築支援について討議した。[柴山恵吾、筒井敦子]

### III. その他

1. National Institute for Control of Vaccines and Biologicals, MOH, Vietnam (NICVB)に標準沈降ジフテリアトキソイド分与の問い合わせがあり、分与にあたり準備を行った。[小宮貴子、加藤はる]

2. First Meeting of the Public Health and the Veterinary Public Health-Institutes of the G20 (September 13 – 14, 2017, Berlin, ドイツ厚生省、農水省主催)に参加し、薬剤耐性対策に関するグローバルな取り組みについて討議した。[柴山恵吾]

3. Surveillance of Antimicrobial Resistance for Local and Global Action (27-28 April, 2017, Stockholm, The Public Health Agency of Sweden 主催)に参加し、WHO が推進する薬剤耐性サーベイランス GLASS の今後の方向性について討議を行なった。[柴山恵吾]

## 研修業務

### I. 生物学的製剤の品質保証に関する研修

1. 国立保健医療科学院における短期研修薬事衛生管理研修コースにおいて「微生物管理と試験法」について講義した。(平成29年5月)[佐々木裕子]

### II. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

1. 平成29年11月15日から17日まで、動物実験を中心にボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会を行った。富山県、広島市、神戸市、埼玉県から4地研が参加した。[岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代]

### III. その他

1. 名古屋大学大学院医学研究科修士課程医科学専攻医療行政コースヤング・リーダーズ・プログラム研修講義(戸山庁舎、英語、2017年6月21日)[柴山恵吾]

2. 神奈川県衛生研究所の所内勉強会(第1回病原細菌遺伝学的解析法研修)の講師、「肺炎マイコプラズマの遺伝子

型別とゲノム解析)(神奈川県衛生研究所 2017 年 7 月 20 日) [見理 剛]

3. 平成 29 年度感染症危機管理研修会講義 「最近のボツリヌス症事例」(戸山庁 2017 年 10 月 11 日)[加藤はる]

4. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会講義 「地域で必要とされる *Clostridium difficile* 感染症への対応」(戸山庁 2018 年 2 月 28 日)[加藤はる]

5. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会講義 「ボツリヌス症疑い事例発症時の対応について」(戸山庁 2018 年 2 月 28 日)[加藤はる]

6. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会(2018 年 2 月)「ジフテリアとコリネバクテリウム・ウルセランス感染症」[岩城正昭]

7. 平成 29 年度動物由来感染症対策技術研修会(2017 年 10 月)「コリネバクテリウム・ウルセランス感染症」[岩城正昭]

8. 院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)新規参加医療機関募集に伴う JANIS のデータ提出・活用のための説明会「*Clostridium difficile* 感染症と院感染対策について」(厚生労働省 2017 年 9 月)[加藤はる]

## その他

### I. 行政科学等に対する対応

1. 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2017(厚生労働省薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会)作成協力[柴山恵吾]

2. 日本薬局方、生物試験法委員会が開催され(4 回)、第十七改正の原案等について協議した。[佐々木裕子]

### II. 感染症等についての対応

1. *Clostridioides difficile* 感染症やアウトブレイク疑事例についての問い合わせに対応し、依頼があった医療機関や地域の研究会・勉強会においては講義や講演を行った。[妹尾充敏、加藤はる]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Osaka S, Okuzumi K, Koide S, Tamai K, Sato T,

Tanimoto K, Tomita H, Suzuki M, Nagano Y, Shibayama K, Arakawa Y, Nagano N. Genetic shifts in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic clones and toxin gene profiles in Japan: comparative analysis among pre-epidemic, epidemic and post-epidemic phases. *J Med Microbiol.* 2018 Mar;67(3):392-399.

2) Matsui M, Suzuki M, Suzuki M, Yatsuyanagi J, Watahiki M, Hiraki Y, Kawano F, Tsutsui A, Shibayama K, Suzuki S. Distribution and Molecular Characterization of *Acinetobacter baumannii* International Clone II Lineage in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018 Jan 25;62(2). pii: e02190-17.

3) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. Complete Genome Sequence of a Type Strain of *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*, a Member of the *Mycobacterium abscessus* Complex. *Genome Announc.* 2018 Feb 1;6(5). pii: e01530-17.

4) Asakura K, Azechi T, Sasano H, Matsui H, Hanaki H, Miyazaki M, Takata T, Sekine M, Takaku T, Ochiai T, Komatsu N, Shibayama K, Katayama Y, Yahara K. Rapid and easy detection of low-level resistance to vancomycin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One.* 2018 Mar 9;13(3):e0194212.

5) Yoshida M, Izumiyama S, Fukano H, Sugiyama K, Suzuki M, Shibayama K, Hoshino Y. Draft Genome Sequence of *Mycobacterium* sp. Strain shizuoka-1, a Novel *Mycobacterium* Isolated from Groundwater of a Bathing Facility in Shizuoka, Japan. *Genome Announc.* 2017 Nov 22;5(47). pii: e01309-17.

6) Miyamoto N, Yahara K, Horita R, Yano T, Tashiro N, Morii D, Tsutsui A, Yaita K, Shibayama K, Watanabe H. Integration of DPC and clinical microbiological data in Japan reveals importance of confirming a negative follow-up blood culture in patients with MRSA bacteremia. *J Infect Chemother.* 2017 Oct;23(10):687-691.

- 7) Bagus Wasito E, Shigemura K, Osawa K, Fardah A, Kanaida A, Raharjo D, Kuntaman K, Hadi U, Harijono S, Marto Sudarmo S, Nakamura T, [Shibayama K](#), Fujisawa M, Shirakawa T. Antibiotic Susceptibilities and Genetic Characteristics of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates from Stools of Pediatric Diarrhea Patients in Surabaya, Indonesia. *Jpn J Infect Dis*. 2017 Jul 24;70(4):378-382.
- 8) Tomida J, Morita Y, [Shibayama K](#), Kikuchi K, Sawa T, Akaike T, Kawamura Y. Diversity and microevolution of CRISPR loci in *Helicobacter cinaedi*. *PLoS One*. 2017 Oct 13;12(10):e0186241.
- 9) Banno H, Kimura K, Tanaka Y, Sekizuka T, Kuroda M, Jin W, Wachino JI, Yamada K, [Shibayama K](#), Arakawa Y. Analysis of multidrug resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility forming small, less hemolytic colonies. *PLoS One*. 2017 Aug 17;12(8):e0183453.
- 10) [Moriuchi T](#), [Otsuka N](#), [Hiramatsu Y](#), [Shibayama K](#), [Kamachi K](#). A high seroprevalence of antibodies to pertussis toxin among Japanese adults: Qualitative and quantitative analyses. *PLoS One* 2017;12:e0181181.
- 11) [Moriuchi T](#), Vichit O, Vutthikol Y, Hossain MS, Samnang C, Toda T, Grabovac V, [Hiramatsu Y](#), [Otsuka N](#), [Shibayama K](#), [Kamachi K](#). Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis* in Cambodia determined by direct genotyping of clinical specimens. *Int J Infect Dis* 2017;62:56-58.
- 12) [Otsuka N](#), Guiso N, Bouchez V. The length of poly(C) stretch in the *Bordetella pertussis* P<sub>fm3</sub> promoter determines the *vag* or *vrg* function of the *fm3* gene. *Microbiology* 2017;163:1364-1368.
- 13) [Hiramatsu Y](#), [Miyaji Y](#), [Otsuka N](#), Arakawa Y, [Shibayama K](#), [Kamachi K](#). Significant decrease in pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates, Japan. *Emerg Infect Dis* 2017;23(4):699-701.
- 14) [Kenri T](#), Suzuki M, [Horino A](#), Sekizuka T, Kuroda M, Fujii H, Hashimoto T, Nakajima H, Ohya H, [Shibayama K](#). Complete Genome Sequences of the *pl* Gene Type 2b and 2c Strains *Mycoplasma pneumoniae* KCH-402 and KCH-405. *Genome Announc*. 2017 Jun 15;5(24). pii: e00513-17. doi: 10.1128/genomeA.00513-17.
- 15) Ohyama N, Torio M, Nakashima K, Koga Y, Kanno S, Nishio H, Sasazuki M, [Kato H](#), Asakura H, Akamine S, Ishizaki Y, Sanefuji M, Sakai Y, Ohga S. A childhood-onset intestinal toxemia botulism during chemotherapy for relapsed acute leukemia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2017; 16:61.
- 16) Nanki K, Mizuno S, Matsuoka K, Ono K, Sugimoto S, Kiyohara H, Arai M, Nakashima M, Takeshita K, Saigusa K, [Senoh M](#), [Fukuda T](#), Naganuma, M, [Kato H](#), Suda W, Hattori M, Kanai T. Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection in a patient with ulcerative colitis. 2018; *Intest Res* 16(1):142-146.
- 17) Masuda H, Masai T, Takatani M, [Kato H](#). A life-threatening infection due to *Corynebacterium striatum*: a lesson learned. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 2018; 26:709-710.
- 18) Otsuji K, Fukuda K, Endo T, Shimizu S, Harayama N, Ogawa M, Yamamoto A, Umeda K, Umata T, Seki H, [Iwaki M](#), Kamochi M, Saito M, The first fatal case of *Corynebacterium ulcerans* infection in Japan. *JMM Case Reports* 2017; 4 (8) e005106.
- 19) Yasuda I, Matsuyama H, Ishifuji T, Yamashita Y, Takaki M, Morimoto K, Sekino M, Yanagihara K, Fujii T, [Iwaki M](#), Yamamoto A, Ariyoshi K, Tanaka T. Severe pneumonia caused by toxigenic *Corynebacterium ulcerans* infection, Japan. *Emerging Infectious Diseases* 2018; 24 (3) 588-591.
- 20) [Rimbara E](#), [Mori S](#), [Kim H](#), Suzuki M, [Shibayama K](#). Mutations in Genes Encoding Penicillin-Binding Proteins and Efflux Pumps Play a Role in  $\beta$ -Lactam Resistance in *Helicobacter cinaedi*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018 Jan 25;62(2). pii: e02036-17.
- 21) Donini S, Garavaglia S, Ferraris DM, Miggiano R, [Mori](#)

S, Shibayama K, Rizzi M. Biochemical and structural investigations on phosphoribosylpyrophosphate synthetase from *Mycobacterium smegmatis*. PLoS One. 2017 Apr 18;12(4):e0175815.

## 2. 和文発表

- 1) 鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、柴山恵吾、どこでも誰でもより長く ナノポアシークエンサーが研究の常識を変える! ナノポアシークエンサーによる薬剤耐性菌ゲノムの解析 実験医学 36(1):21-26, 2018年1月
- 2) 柴山恵吾、薬剤耐性(AMR)対策 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)からみた AMR 対策の課題と展望、公衆衛生 81(10):798-803, 2017年10月
- 3) 佐々木裕子、マイコプラズマ否定試験、*Mycoplasma pneumoniae* の取り扱いについて、実践 微生物試験法Q&A、佐々木次雄、棚元憲一、菊池 裕編、じほう、東京、p52-55、2017年4月
- 4) 石村さおり、折田環、小林敦子、加藤はる。 Binary toxin 産生性 *Clostridioides difficile* (*Clostridium difficile*) による市中型偽膜性大腸炎の1例。日本臨床微生物学会誌 2917; 27(4):93-99.
- 5) 加藤はる、朝倉宏、百瀬愛佳。ボツリヌス症って、どんな病気? Information PLAZA 健康教室(東山書房) 2017; 68 (12):76-79.
- 6) 加藤はる 監修。乳児ボツリヌス症の本当のことが知りたい!! ひよこクラブ7月号 株式会社ベネッセコーポレーション 平成29年6月15日発行 p22-23.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Shibayama K, Experience of Japan in working on surveillance of antimicrobial resistance. Workshop on Sharing Experience in Intersectoral Coordination. Oct. 2017, Hanoi Vietnam.
- 2) Shibayama K, National Surveillance system for Antimicrobial Resistance and Adaptation of GLASS in Japan. 20th General Meeting of the Korean Society for Clinical Microbiology, July 2017.

3) 柴山恵吾、抗微生物薬適正使用のためのワンヘルス・サーベイランス(英語)、Tokyo AMR One-Health Conference, Nov. 2017.

4) Kamachi K, Otsuka N. Molecular epidemiology and pathogenesis of *Bordetella* spp.: Significant decrease in pertactin-deficient *B. pertussis* isolates, Japan. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases, Sep. 2017, Tokyo.

5) Iwaki M. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* causing diphtheria-like illness to humans. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases. September 2017, Tokyo.

6) Rimbara E, Mori S, Suzuki M, Hyun K, Shibayama K. Mechanism of resistance to ceftriaxone in *Helicobacter cinaedi*. The 19th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms, Sep. 2017, Nantes France.

7) Mori S, Honda N, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. The development of novel structure based inhibitors of diadenosine phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis*. IUMS2017, July 2017, Singapore.

8) Mori S. Molecular mechanisms of antimicrobial resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases, Sep. 2017, Tokyo.

9) Mori S, Honda N, Kim H, Rimbara E, and Shibayama K. The catalytic activities of diadenosine polyphosphate phosphorylases from mycobacteria. The 52nd US-Japan Mycobacteria Panel Meeting, March 2018, Niigata.

### 2. 国内学会

- 1) 柴山恵吾 薬剤耐性菌の地域社会での拡がり SATREPS 事業から見えてきた課題 日本における薬剤耐性菌サーベイランス JANIS について 第75回日本公衆衛生学会総会、大阪、2016年10月
- 2) 矢原 耕史, Meric Guillaume, Bentley Stephen,



- Parkhill Julian, Didelot Xavier, Kelly David, Sheppard Samuel, 鈴木 仁人, 柴山 恵吾. 細菌の遺伝多型と表現型のゲノムワイド関連解析 最近の 2 つの研究から. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018年3月
- 3) 柴山恵吾、環境・動物・食品に分布する耐性菌がヒトの感染症に与える影響を考える 薬剤耐性調査に関する国内外の動向. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018年3月
- 4) 吉田 真歩, 矢原 耕史, 柴山 恵吾, 細菌分泌系と病原性(Type VI secretion systems in bacterial pathogens causing nosocomial infections), 鈴木 仁人, 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018年3月
- 5) 片山 由紀, 松井 秀仁, 高田 徹, 花木 秀明, 柴山 恵吾, 矢原 耕史, 高久 智生, 落合 友則, 小松 則夫, 畦地 拓哉, 笹野 央, 宮崎 元康, MAIDI-TOF MS データを用いたバンコマイシン低感受性 MRSA 株の自動判別、朝倉 弘太, 第29回日本臨床微生物学会総会、岐阜、2018年2月
- 6) 小出 将太, 大崎 裕介, 谷口 唯, 林 航, 長野 則之, 奥住 捷子, 佐藤 智明, 長野 由紀子, 玉井 清子, 鈴木 匡弘, 谷本 弘一, 富田 治芳, 柴山 恵吾, 荒川 宜親, 国内における MRSA 流行クローンの変遷に関する調査研究、小坂 駿介 第29回日本臨床微生物学会総会、岐阜、2018年2月
- 7) Nao Otsuka, Yukihiro Hiramatsu, Keigo Shibayama, Kazunari Kamachi. Construction of a novel vaccine strain *Bordetella pertussis* Tohama co-producing Fim2 and Fim3. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018年3月
- 8) 神谷元, 蒲地一成. 2016年の百日咳流行とその細菌学的解析. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018年3月
- 9) 村田幸樹, 見理 剛, 中根大介, 柴山恵吾, 西坂崇之. マイコプラズマの滑走速度を示す分子速度計. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018年3月
- 10) 福田 靖、妹尾充敏、本田 仁、田頭保影、加藤はる、柴山恵吾. 日本の *Clostridium difficile* 感染症疫学研究報告:細菌学的検査法における比較検討. 第91回日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017年4月
- 11) 田頭保影、妹尾充敏、福田 靖、加藤はる、本田 仁. 日本の *Clostridium difficile* 感染症疫学研究報告:発生率とリスクファクター. 第91回日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017年4月.
- 12) 妹尾充敏、福田 靖、本田仁、田頭保影、加藤はる、柴山恵吾. 日本の *Clostridium difficile* 感染症疫学研究報告:タイピング解析. 第91回日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017年4月.
- 13) 山本俊信、谷川直人、加藤千博、藤田浩平、本田千晴、横山多佳子、加藤宗博士、宇佐見郁治、青山由紀子、三宅真由美、加藤はる、妹尾充敏、福田靖. 当院における *Clostridium difficile* の検出状況と感染対策. 第91回日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017年4月.
- 14) 加藤はる. シンポジウム 5 *Clostridium difficile* 感染症の最新知見: *Clostridioides (Clostridium) difficile* 感染症の local epidemiology. 第66回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京、2017年11月.
- 15) 加藤はる. 教育セミナー8: *Clostridium difficile* 感染症への対応は適切な細菌学的検査から始まる. 第66回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京、2017年11月.
- 16) 加藤はる. ランチョンセミナー: プラクティカルな *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査. 第29回日本臨床微生物学会総会学術総会. 岐阜市、2018年2月.
- 17) 古川 奈々、太田久美子、加藤 はる. PCR-ribotype 002 *Clostridium difficile* による重症 2 例を含む集団発生事例. 日本臨床微生物学会総会学術総会. 岐阜市、2018年2月
- 18) 土谷 愛、松野 夏純、小菅 葉子北尾 泉、小泉 充正、松本 裕子、太田 嘉、加藤 はる. 中毒性巨大結腸を来した *Clostridium difficile* 劇症腸炎の死亡例. 日本臨床微生物学会総会学術総会. 岐阜市、2018年2月.

- 19) 加藤はる. 教育講演:ボツリヌス疑い発生時の対応について 一重要な事と重要でないこと. 第30回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会研究会. 岐阜市, 2018年2月.
- 20) 加藤はる. シンポジウム 12: 日本における *Clostridioides (Clostridium) difficile* の流行状況と感染対策:日本の医療施設における *Clostridium difficile* 感染症:多施設前方視研究から. 第33回日本環境感染学会総会・学術集会. 東京, 2018年2月.
- 21) 村端真由美, 加藤はる, 妹尾充敏, 矢野久子. 健康小児の *Clostridium difficile* における消化管保有の現状. 第33回日本環境感染学会総会・学術集会. 東京, 2018年2月.
- 22) 加藤はる. 特別講演:日本の医療機関における *Clostridium difficile* 分子疫学:多施設前方視研究から. 第48回日本嫌気性菌感染症学会総会・学術集会 広島市, 2018年3月.
- 23) 妹尾充敏, 加藤はる, 岩城正昭, 柴山恵吾. Development of DNA vaccine for *Clostridium difficile* infection. 第91回日本細菌学会総会. 福岡, 2018年3月
- 24) 岩城正昭. コリネバクテリウム・ウルセランス感染症-ジフテリア類似の人獣共通感染症-. ワンヘルスに関する連携シンポジウムーヒトと動物の共通感染症ー(厚生労働省主催、日本医師会、日本獣医師会共催) 別府, 2018年2月
- 25) 金玄, Ruwen Jon, 森茂太郎, 林原絵美子, 柴山恵吾, イソニアジド耐性に係る結核菌由来 KatG 変異の機能解析. 第91回日本細菌学会総会, 福岡, 2018年3月
- 26) 林原絵美子, 柴山恵吾, *Helicobacter cinaedi* における薬剤排出ポンプと薬剤耐性との関連 第23回日本ヘリコバクター学会, 函館, 2017年6月
- 27) 林原絵美子, 鈴木仁人, 矢原耕史, 森茂太郎, 金玄, 柴山恵吾, *Helicobacter cinaedi* のアウトブレイク由来株を含むゲノム解析, 福岡, 2018年3月
- 28) 楠英樹, 田中俊之, 河野俊之, 松橋一彦, 森茂太郎, 細田和男, 若松馨, 浜口功, HTLV-1 Env 由来ペプチドとニューロピリン 1 b1 ドメインの相互作用解析, 第4回日本 HTLV-1 学会学術集会, 大阪, 2017年8月
3. その他(紀要・ホームページ等)
- 紀要
1. 国立感染症研究所 HP 感染症の話 「ボツリヌス症とは」  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/7275-botulinum-intro.html>
2. 院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)のデータ提出・活用のための説明会資料インターネット公開  
[https://janis.mhlw.go.jp/participation/material/2017\\_lecture\\_4\\_kato.pdf](https://janis.mhlw.go.jp/participation/material/2017_lecture_4_kato.pdf)
3. Mori S. *Mycobacterium avium* 由来ヌクレオチド加リン酸分解酵素の N 末端削除変異体の結晶化と結晶学的諸性質. Photon Factory Activity Report 2016 #34 Part B, No.174, 2017